

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**TOLERÂNCIA DO ARROZ IRRIGADO AO HERBICIDA
CLOMAZONE PELA AÇÃO DE PROTETORES DE
PLÂNTULAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Danie Martini Sanchotene

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**TOLERÂNCIA DO ARROZ IRRIGADO AO HERBICIDA
CLOMAZONE PELA AÇÃO DE PROTETORES DE
PLÂNTULAS**

por

Danie Martini Sanchotene

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientador: Prof. Nelson Diehl Kruse

Santa Maria, RS, Brasil

2009

S211t Sanchotene, Danie Martini, 1983-
Tolerância do arroz irrigado ao herbicida clomazone pela ação de protetores de plântulas / por Danie Martini Sanchotene ; orientador Nelson Diehl Kruse. - Santa Maria, 2009.
50 f. ; il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.

1. Agronomia 2. Arroz irrigado 3. Clomazone 4. Dietholate 5. Phorate 6. Protetor de plântula 7. Solos I. Kruse, Nelson Diehl, orient. II. Título

CDU: 633.18.03

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes - CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Danie Martini Sanchotene. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Appel, n. 472, Bairro Centro, Santa Maria, RS, 97015-030
Fone (0xx)55 32218605;
End. Eletr: danie.sanchotene@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**TOLERÂNCIA DO ARROZ IRRIGADO AO HERBICIDA CLOMAZONE
PELA AÇÃO DE PROTETORES DE PLÂNTULAS**

elaborada por
Danie Martini Sanchotene

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Luis Antonio de Avila, Ph.D.
(Presidente/Co-Orientador)

Dirceu Agostinnetto, Dr. (UFPel)

Durval Dourado Neto, Dr. (ESALQ/USP)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

À minha Família,

As pessoas que estiveram sempre ao meu lado, em especial a: minha namorada, Maria Odila Finger Lima pelo carinho, apoio, dedicação e incentivo nos momentos mais difíceis durante o curso de pós-graduação; ao meu pai Silvio Sanchotene pelo incentivo, carinho e ensinamentos; à minha mãe Roseclei Sanchotene, pelo amor, apoio e sabedoria; aos meus irmãos Tiago Sanchotene e Silvio Sanchotene Jr., pelo amor, apoio e convívio.

Aos Mestres,

Sylvio Henrique Bidel Dornelles, pelo apoio, amizade e ensinamentos durante o curso de graduação e pós-graduação; ao co-orientador e amigo Luis Antonio de Avila, pelo apoio e dedicação durante o curso de pós-graduação.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família em especial a minha namorada Maria Odila, aos meus pais, Silvio e Roseclei e irmãos Tiago e Silvio Jr, pelo carinho, apoio e compreensão nesta jornada no curso de pós-graduação.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelas condições e oportunidade de desenvolver este trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Ao professor Orientador Nelson Kruse, pela amizade, sinceridade, ensinamentos e dedicação durante o curso de Pós-Graduação.

Ao professor co-orientador Luis Antonio de Avila, pela amizade, honestidade e incansável dedicação e orientação durante o curso de Pós-Graduação.

Aos professores e colegas Sylvio Henrique Bidel Dornelles, pela amizade, sinceridade e disponibilidade de condições para desenvolver parte do projeto de dissertação; Sérgio Machado, pela amizade, dedicação e co-orientação durante o curso de Pós-Graduação.

Aos colegas e amigos, Rafael Mezzomo, Gislene Nicolodi, Fernando Martini, Gustavo Teló, Lucas Navarini, Marcelo Madalosso, Sandro Possebom, pela amizade e compreensão durante o curso de mestrado.

A todos os meus amigos que contribuíram direta e indiretamente com o sucesso deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

TOLERÂNCIA DO ARROZ IRRIGADO AO HERBICIDA CLOMAZONE PELA AÇÃO DE PROTETORES DE PLÂNTULAS

AUTOR: DANIE MARTINI SANCHOTENE

ORIENTADOR: NELSON DIEHL KRUSE

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

O herbicida clomazone é utilizado para controle de poáceas na cultura do arroz irrigado. Porém, sua dose de registro para essa cultura não proporciona controle eficiente para determinadas espécies de plantas daninhas. Assim, há a necessidade de elevar sua dose para melhorar a eficácia sobre estas espécies. A seletividade do clomazone no arroz irrigado está condicionada ao tipo de solo, à dose do herbicida e a cultivar semeada, necessitando-se o uso de protetor de plantas quando se praticam altas doses de clomazone. Entretanto, há a necessidade de adequar esses fatores para melhor uso da tecnologia. Em vista do exposto, instalaram-se dois experimentos em casa de vegetação. O primeiro, com o objetivo de quantificar a seletividade de doses de clomazone em solo com característica arenosa e argilosa e verificar a ação do protetor de plantas dietholate sobre cultivares de arroz. O segundo experimento objetivou verificar se o organofosforado phorate proporciona efeito protetor semelhante àquele proporcionado pelo dietholate. Os resultados permitiram concluir que as cultivares IRGA 409 e IRGA 417 são igualmente sensíveis ao clomazone, e respondem igualmente aos tratamentos com dietholate. Tanto no solo arenoso como no solo argiloso, o dietholate como tratamento de sementes permitiu aumento da dose de clomazone em até três vezes a dose em relação ao tratamento sem dietholate. O phorate apresenta papel protetor na cultivar de arroz IRGA 417, contra a ação do herbicida clomazone, de forma equivalente ao protetor dietholate.

Palavras-chave: Clomazone; dietholate; phorate; protetores; solos.

ABSTRACT

M. S. Dissertation
Programa de Pós-Graduação Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

TOLERANCE OF IRRIGATED RICE TO CLOMAZONE HERBICIDE BY ACTION OF SAFENERS

AUTHOR: DANIE MARTINI SANCHOTENE

ADVISER: NELSON DIEHL KRUSE

Santa Maria, February 27, 2009.

Clomazone is a herbicide used for grass weed control in paddy rice. However, label rate may not provide efficient control for some weed species. For this reason many times it is necessary to increase the rate to improve weed control efficiency. Clomazone selectivity in rice is affected for soil type, the rate of the herbicide and the cultivar used, been necessary the use of safener to protect the plants when high rates are used. Though, it is necessary to adjust those factors for better use of this technology. For this reason, it were conducted two greenhouse experiments, the first with the objective of quantify the selectivity of clomazone in sand and clay soils, to quantify the protection of the dietholate on rice plants in these soil conditions. The second experiment had the objective of verify if phorate provides similar protective effect as dietholate provides for clomazone. The results allowed to conclude that the cultivars IRGA 409 and IRGA 417 are equally sensible to clomazone. In regards of soil type, clomazone cause higher injury to rice cultivated in sandy soil. The application of dietholate allows the increase of dose of clomazone. As much in the sandy soil as in the clay soil, dietholate as treatment of seeds allowed increase of the dose of clomazone in up to three times the dose in relation to the treatment without dietholate. Organophosphate phorate is capable to act as safener for rice when clomazone is applied, with similar safening ability as dietholate, conferring to the crop capability to support higher rates of clomazone.

Key words: Clomazone; dietholate; phorate; safeners; soils.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Doses de clomazone, em g i.a. ha ⁻¹ , que causam 50% de fitotoxicidade (FT ₅₀), 50% de redução de massa verde da parte aérea (MV ₅₀) e 50% de redução de massa seca da parte aérea (MS ₅₀), e respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade, em função do tipo de solo e do uso do protetor dietholate. Santa Maria, RS, 2009.	28
TABELA 2. Doses de clomazone em g i.a. ha ⁻¹ que causam 50% de fitotoxicidade (FT ₅₀), 50% de redução da estatura de planta (EST ₅₀), 50% de redução de massa fresca de plantas (MF ₅₀) e 50% de redução de massa seca de plantas (MS ₅₀) e seus respectivos intervalos de confiança em 95% de probabilidade em função do tratamento de semente com protetores. Santa Maria, RS, 2009.....	43

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Curvas de dose-resposta de clomazone e o efeito do tipo de solo, (—) solo arenoso sem dietholate; (- -) solo arenoso com dietholate; (- - -) solo argiloso sem dietholate; (·····) solo argiloso com dietholate, na fitotoxicidade (A), massa verde de plantas (B) e na massa seca de plantas (C) de arroz irrigado, na média de duas cultivares. Santa Maria, RS, 2009.29
- Figura 2. Curvas de dose-resposta do arroz irrigado (Cultivar IRGA 417) ao herbicida clomazone, sem a adição de protetor (—), com o protetor dietholate (- - -) e com o protetor phorate (...), ambos aplicados como tratamento de sementes. Fitotoxicidade (A) e redução da estatura de plantas (B). Santa Maria, RS, 2009.41
- Figura 3. Curvas de dose-resposta do arroz irrigado (Cultivar IRGA 417) ao herbicida clomazone, sem a adição de protetor (—), com o protetor dietholate (- - -) e com o protetor phorate (·····), ambos aplicados como tratamento de sementes. Redução da massa fresca (A) e de massa seca de plantas (B). Santa Maria, RS, 2009.42

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO I	15
Resumo	15
Introdução.....	16
Material e Métodos	18
Resultados e Discussão	22
Conclusão.....	30
CAPÍTULO II	31
Resumo	31
Abstract.....	32
Introdução.....	32
Material e Métodos	36
Resultados e Discussão	40
Conclusão.....	46
CONCLUSÃO GERAL	47
REFERÊNCIAS.....	48

INTRODUÇÃO

O herbicida clomazone é registrado no Brasil para as culturas do arroz, cana-de-açúcar, fumo, soja e do algodão, para controle pré-emergente de gramíneas e algumas espécies dicotiledôneas (ALMEIDA et al., 2007). Esse herbicida é comercializado nas formulações EC (concentrado emulsionável a 500 e 800 g i.a. L⁻¹) e CS (suspensão de encapsulado a 360 g i.a L⁻¹). Na cultura do arroz foi inicialmente usado, no início da década de 90, como pré-emergente, ou em pós-emergência, em mistura com o herbicida propanil.

O herbicida clomazone é absorvido preferencialmente pelas raízes das plantas e translocado via xilema para as folhas, onde é metabolizado a 5-ceto clomazone, a sua forma ativa. O 5-ceto clomazone inibe a enzima deoxixilulose fosfato sintase (DXP sintase), enzima chave na síntese dos isoprenóides nos plastídios (FERHATOGLU et al., 2006; SENSEMAN, 2007).

Devido suas características físico-químicas, a seletividade do clomazone ao arroz irrigado é limitada. Essa limitação pode ser relacionada à dose aplicada, a cultivar semeada (SHERDER et al., 2004) e ao tipo de solo da área e do potencial de água no solo (LEE et al., 2004).

No RS, há uma diversidade de solos com características físico-químicas contrastantes, destinados à produção de arroz. As diferenças entre os tipos de solo são explicadas pela diversidade no material de origem do solo do RS atrelado a influência do relevo e do clima de cada região (STRECK et al., 2008). Infere-se que para cada textura e quantidade de matéria orgânica presentes no solo, o clomazone apresentará um comportamento diferenciado, com relação à sua disponibilidade para as plantas de arroz.

A utilização do clomazone pode ser influenciada pelo tipo de solo, uma vez que para solos arenosos a recomendação envolve doses menores que aquelas praticadas em solos argilosos. O que limita o uso de clomazone a determinadas doses em relação ao tipo de solo é a seletividade diferencial à cultura. Essa seletividade está relacionada às características dos solos que disponibilizam maior ou menor quantidade do produto na solução do solo conforme o nível de matéria orgânica, o teor de argila e o potencial de água no solo (LEE et al., 2004). A

concentração do herbicida no solo depende primeiramente da solubilidade na fase líquida do solo, adsorção do xenobiótico nos componentes do solo, lixiviação e degradação do herbicida (GAILLARDON et al., 1991). Dentre outros fatores que influenciam na seletividade do clomazone as plantas de arroz, destaca-se a concentração do herbicida presente na fase líquida do solo, pois o clomazone, por possuir alta solubilidade em água (1.100 mg L^{-1}), tem a tendência de ficar disponível na solução do solo. Porém, a matéria orgânica presente no solo adsorve o clomazone, liberando-o gradativamente para a solução do solo (CUMMING et al., 2002).

A seletividade do herbicida à cultura pode ser relacionada a uma série de fatores, como características do produto, das plantas e do método de aplicação, sendo determinada pela tolerância diferenciada que as plantas apresentam à ação do composto (OLIVEIRA JR., 2001). Embora a seletividade herbicida possa ser associada à absorção, translocação ou metabolismo, esses mecanismos podem não explicar as diferenças e respostas observadas entre espécies. Há diferença de seletividade do clomazone entre cultivares de arroz irrigado, porém não relacionando com a capacidade de absorção, translocação e metabolismo da planta, e sim, por características genéticas presentes nas cultivares que possuem menor atuação da enzima Citocromo P-450 monooxigenase (ZHANG et al., 2004).

O clomazone é considerado um “pré-herbicida”, pois necessita de uma enzima monooxigenase para tornar-se um herbicida ativo. De fato, o 5-ceto clomazone, metabólito resultante da oxidação do clomazone, em duas etapas, é que irá atuar na inibição da enzima DXP, impedindo assim a síntese dos carotenóides (TENBROOK et al., 2006). A enzima Citocromo P-450 monooxigenase, normalmente possui a função de detoxificação, mas, nesse caso, é a responsável pela oxidação (ativação) da molécula clomazone, tornando o clomazone mais tóxico para as plantas que possuem maior capacidade de oxidação (YUN et al., 2005).

A tolerância do arroz a altas doses de clomazone é conferida pela inibição de uma das enzimas Citocromo P-450 monooxigenase presentes no arroz, através de um protetor (safener), o dietholate. O uso do dietholate no tratamento de sementes confere à planta maior tolerância a doses de clomazone (KARAM et al., 2003). Segundo Ferhatoglu (2005), a tolerância da cultura ao herbicida clomazone é baseada no rápido metabolismo do herbicida, onde compostos como o dietholate e alguns inseticidas organofosforados podem diminuir a taxa de metabolização do

xenobiótico. Estudos na cultura do algodão mostram que diversos inseticidas como malation, phorate, zineb entre outros, são capazes de inibir a enzima Citocromo P-450 monooxigenase, tornando-a tolerante a doses mais elevadas de clomazone. Isso possibilitaria um aumento no espectro de ação do herbicida sobre as plantas daninhas. Segundo Ferhatoglu et al. (2005), o inseticida phorate protege o algodão contra o branqueamento, reduzindo o metabolismo do clomazone. Esse processo também foi observado pelos pesquisadores na cultura da soja, onde o inseticida inibiu a ação da P-450, em seu papel de metabolizar o clomazone, pois não ocorreu a formação do seu herbicida realmente ativo, responsável pela inibição da síntese dos carotenóides.

Em função de sua eficiência no controle de poáceas, mais recentemente, o clomazone tem se apresentado como uma importante alternativa de controle de espécies perenes, especialmente as estoloníferas, para as quais não são eficientes outros herbicidas. Neste contexto, são utilizadas doses de clomazone superiores àquelas normalmente utilizadas para a cultura do arroz irrigado. Porém, esse sistema envolve o tratamento de sementes com protetores de plantas como o dietholate e possivelmente com outros organofosforados (phorate, malation, carbaril) que permitem aumentar as doses do clomazone aplicadas sobre a cultura sem lhe imprimir fitotoxicidade.

Entretanto, é necessário verificar se de fato esses compostos têm o papel protetor suposto, e em que magnitude as doses de clomazone podem ser seletivas a cultivares de arroz irrigado em solos do Rio Grande do Sul, com diferentes texturas, certificando a eficiência da ação dos protetores de plantas nestas condições variadas.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi o de quantificar a tolerância de cultivares de arroz irrigado a doses do herbicida clomazone em solos arenoso e argiloso com e sem a presença dos protetores de plantas dietholate e phorate.

CAPÍTULO I

DIETHOLATE AUMENTA A SELETIVIDADE DE CLOMAZONE SOBRE CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO EM SOLO ARENOSO E SOLO ARGILOSO

DIETHOLATE ENHANCE THE SELECTIVITY OF CLOMAZONE ON RICE CULTIVARS IN SANDY SOIL AND IN CLAY SOIL

Resumo

O herbicida clomazone tem sua seletividade variável de acordo com a cultivar, o tipo de solo e a dose aplicada. O uso do protetor dietholate permite seletividade em diferentes ambientes, sendo necessário o estudo da relação entre esses fatores. Em vista do exposto, foi desenvolvido experimento com o objetivo de quantificar a seletividade do herbicida clomazone em função de cultivares de arroz irrigado, tipos de solos, doses de clomazone e tratamento de sementes com dietholate. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial. O fator A foi composto por cultivares de arroz irrigado (IRGA 409 e IRGA 417); o fator B composto pela ausência do protetor dietholate; o fator C composto por tipos de solo (arenoso e argiloso) e o fator D composto por doses de clomazone (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 e 10000 g i.a. ha⁻¹). Dezoito dias após a semeadura do arroz, foi avaliado a fitotoxicidade, o percentual de redução de massa fresca e de massa seca das plantas de arroz. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância. Houve diferença entre os dois tipos de solo e entre os tratamentos com e sem dietholate. As cultivares de arroz toleram maiores doses de clomazone quando tratadas com dietholate e semeadas em solos com maior teor de argila e matéria orgânica. Em solo arenoso a fitotoxicidade do herbicida nas plantas de arroz é maior, apresentando doses necessárias para causar 50% do efeito menores quando comparadas àquelas necessárias para causar o mesmo efeito em solo argiloso.

Palavras-chave: Protetor de plantas, tipo de solo, seletividade, *Oryza sativa*

Abstract

Clomazone is a herbicide that has selectivity varying accordingly to cultivar, soil type and herbicide rate. On the other hand the protector dietholate allows to selectivity in

different conditions, being necessary the study of the relation between these factors. For these reason, it was carried out an experiment aiming to quantify the selectivity of the herbicide to rice cultivar, in two soil types and with seeds treated and untreated with dietholate. The experiment was conducted in a greenhouse, in the randomized block design with four replication in a factorial arrangement. The Factor A included two rice cultivar, the Factor B seeds treated and untreated with dietholate, the Factor C include two soil types and the Factor D included eight rates of clomazone (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 and 10000 g i.a. ha⁻¹). Eighteen days after sowing, it were evaluated plant injury, the percentage of reduction of fresh mass weight and dry mass weight of the rice plants. The data was submitted to the analysis of the variance. There was difference ($P \leq 0.05$) between the two soil types and between the treatments of seeds with and without dietholate. The rice cultivars tolerate higher rates of clomazone when treated with dietholate and sown in soil with higher clay content and organic matter content. In sandy soil, the herbicide injury in rice plants is higher, showing rates to cause 50% of effect lower, when compared to those needed to cause the effect in clay soil.

Key words: Safeners, selectivity, soil, *Oryza sativa*

Introdução

O herbicida clomazone pertence ao grupo químico das isoxazolidinonas, e age no processo da fotossíntese, inibindo uma enzima da rota de síntese dos carotenóides, que são os conhecidos pigmentos protetores da clorofila. Com sua ação, as folhas das plantas sensíveis tornam-se muitas vezes sem coloração (brancas), gerando um sintoma característico desse grupo de herbicidas (Vidal, 1997). Sua ação específica envolve a inibição da enzima deoxixilulose fosfato sintase (DXP sintase), responsável pela síntese de isoterpenóides, precursores básicos dos carotenóides, numa rota alternativa, denominada rota metilerithritol 4-fosfato (MEP), que ocorre no cloroplasto (FERHATOGLU et al., 2006). Devido às suas características físico-químicas, sua seletividade ao arroz irrigado é limitada em função da dose aplicada, da cultivar semeada (SHERDER et al., 2004), do tipo de solo e do potencial de água no solo (LEE et al., 2004).

Para melhorar a seletividade desse herbicida à cultura do arroz, tem-se utilizado o protetor de sementes dietholate, tendo sua atuação baseada na inibição da enzima Citocromo P-450 monooxigenase, enzima responsável pela ativação do clomazone (FERHATOGLU et al., 2005). O herbicida clomazone como tal, não tem atividade herbicida (é considerado um pré-herbicida), e precisa, portanto, ser ativado para a forma 5-ceto clomazone, que é o metabólito do clomazone com atividade herbicida (TENBROOK et al., 2006). Com a inibição dessa enzima, não há transformação do clomazone, não havendo assim formação do herbicida ativo e consequentemente, dano à planta.

O uso do dietholate, como tratamento de sementes, confere à planta tolerância a maiores doses de clomazone (KARAM et al., 2003), bem como confere maior tolerância a doses usuais em solos mais leves. A enzima Citocromo P-450 monooxigenase possui nas plantas a função de detoxificação, mas no caso do clomazone é a responsável pela sua oxidação, tornando-o tóxico às plantas que possuem maior capacidade de oxidação (FERHATOGLU et al., 2005; YUN et al., 2005).

No Rio Grande do Sul, nas áreas orizícolas, há uma diversidade de solos com características físico-químicas diferentes. As diferenças entre os tipos de solo são explicadas pela diversidade no material de origem do solo do RS atrelado a influência do relevo e do clima de cada região (STRECK et al., 2008).

A concentração do herbicida no solo depende primeiramente da solubilidade na fase líquida do solo, adsorção aos componentes do solo, lixiviação e degradação (GAILLARDON et al., 1991). Analisando quatro tipos de solo apresentando diferentes texturas e porcentagem de matéria orgânica observou-se que a concentração total de herbicida na solução do solo é inversamente proporcional à

quantidade de matéria orgânica do solo, pois ocorre a adsorção do clomazone à matéria orgânica presente no solo (LEE et al., 2004), resultando em redução da concentração do herbicida na solução do solo.

A seletividade herbicida à cultura pode ser relacionada a uma série de fatores, nas quais se destacam as características do produto, das plantas e do método de aplicação, sendo determinada pela tolerância diferenciada que as plantas apresentam à ação do composto (OLIVEIRA JR., 2001). Embora a seletividade a herbicidas possa ser associada à absorção, translocação ou metabolismo, esses mecanismos podem não explicar as diferenças e respostas observadas entre espécies. A diferença de seletividade do clomazone entre cultivares de arroz irrigado foi atribuída a características genéticas presentes nas cultivares, que possui menor atuação da enzima Citocromo P-450, conseqüentemente não tornando ativo o clomazone (ZHANG et al., 2004).

Em vista dessa variabilidade, infere-se que para cada tipo de textura e quantidade de matéria orgânica presentes no solo, o clomazone apresentará um comportamento diferenciado, relacionado à sua disponibilidade para as plantas de arroz. Em vista do exposto, foi desenvolvido experimento com o objetivo de quantificar a seletividade do herbicida clomazone em função das cultivares de arroz irrigado, tipos de solos, doses do herbicida e tratamento de sementes com dietholate.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Santa Maria, durante o ano de 2008. O ensaio foi conduzido em vasos de

polietileno de 1,4 L de capacidade, revestidos internamente com sacos plásticos a fim de evitar perdas de água e herbicida no momento da irrigação. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições sendo os tratamentos arranjados em esquema fatorial 2x2x2x8, onde o fator A consistiu de dois solos (arenoso e argiloso), do fator B de duas cultivares (IRGA 409 e IRGA 417), do fator C de dois tratamentos de sementes (sem e com dietholate) e do fator D por oito doses de clomazone (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 e 10000 g i.a. ha⁻¹).

As amostras de solo foram coletados da superfície (0 – 10cm), com auxílio de pá de corte, de áreas de cultivo de arroz irrigado, nos municípios de Santa Maria/RS (Arenoso) e Dom Pedrito/RS (Argiloso). Para a escolha dos locais de coleta dos solos, levou-se em consideração aspectos relacionados à textura do solo e porcentagem de matéria orgânica. O solo coletado em Santa Maria/RS é classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico arênico (SIBCS, 2006), pertencente à unidade de mapeamento Vacacaí, e tinha as seguintes características: pH água(1:1)= 4,7; P= 6,0 mg.dm⁻³; K= 112 mg.dm⁻³; Argila= 16%; M.O.= 1,6%; Ca= 2,2 cmolc.dm⁻³; Mg= 2,0 cmolc dm⁻³; Al=1,7 cmolc dm⁻³ e índice SMP 6,6. O solo coletado em Dom Pedrito/RS é classificado como um Vertissolo Ebânico Órtico chernossólico (SIBCS, 2006), pertencente à unidade de mapeamento Aceguá e possuía as seguintes características: pH água(1:1)= 5,6; P= 6,8 mg.dm⁻³; K= 204 mg.dm⁻³; Argila= 43%; M.O.= 3,2%; Ca= 24,7 cmolc.dm⁻³; Mg= 5,1 cmolc dm⁻³; Al= 0,0 cmolc.dm⁻³ e índice SMP 6,3. Após a coleta, as amostras de solo foram submetidas a uma toaleta seguida de peneiramento. Foi adicionado 1100g de solo úmido nos vasos já revestidos com sacos plásticos. Para obter uma uniformidade de irrigação durante o ensaio, determinou a umidade gravimétrica conforme manual de métodos análises de solo (EMBRAPA, 1997) no momento da colocação do solo nos

vasos, para determinar a massa seca real de solo contido no vaso. A quantidade de água presente no solo foi 7,28% e 3,78% para os solos das unidades de mapeamento Vacacaí e Aceguá, respectivamente.

A quantidade de água necessária para cada unidade experimental foi determinada através da metodologia de coluna úmida (Forsythe, 1975), onde a partir de um tubo de PVC com 20 mm de diâmetro por 50 cm de comprimento, acrescentou-se uma quantidade determinada de água e aguardou-se a percolação total da mesma dentro do tubo. Após a saturação foi retirada uma amostra de dentro do tubo e calculada a umidade gravimétrica, o resultado determinou a capacidade de campo, que foi calculada para cada tipo de solo. Sabendo-se a massa do vaso, a massa de solo seco contida no vaso e a capacidade de campo de cada solo, foi possível realizar a irrigação dos vasos a cada dois dias, através da medição da massa de cada vaso, adicionando-se água até atingir a massa total (vaso + solo seco + 80% capacidade de campo).

A adubação do solo foi realizada baseado no resultado da análise química do solo e seguindo as recomendações para a cultura do arroz irrigado. A cada 100 kg de solo foi adicionado 20g de uréia, 5g de P_2O_5 e 3g de KCl. Após a adição do adubo, o solo foi homogeneizado através de um misturador centrífugo. Para a escolha das cultivares seguiu-se o critério de rusticidade e ciclo, para a cultivar IRGA 409 e produtividade e extensão de área cultivada no Rio Grande do Sul, a cultivar IRGA 417. O tratamento de semente foi realizado com dietholate (0,0-diethyl 0phenyl phosphorothioate), que pertence ao grupo químico éster do ácido fosfórico, registrado com o nome comercial de Permit (500 g i.a. kg^{-1}) junto ao ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sob o número de registro 00801, de 8/2001

(Brasil, 2002). A dose de dietholate foi de 1000 g de produto comercial por 100 kg de semente.

A semeadura nos vasos ocorreu no dia 24 de fevereiro de 2008, em uma profundidade de 1 cm. A aplicação dos tratamentos herbicidas em pré-emergência do arroz ocorreu no dia 25 de fevereiro de 2008 apresentando temperatura média de 25,4°C e umidade relativa média do ar de 65%. Para a aplicação utilizou-se com um pulverizador costal pressurizado a CO₂, munido de uma barra com 1,5 metros de comprimento, com quatro pontas espaçadas a 0,5m. A aplicação dos tratamentos foi realizada fora da estufa, sendo que após a aplicação os vasos permaneceram no lado de fora por um período de 48 horas, para evitar a contaminação dos tratamentos através da volatilização do clomazone. Após este período, os vasos retornaram para a estufa, onde permaneceram em ambiente protegido, recebendo irrigação a cada dois dias, por 18 dias. As condições climáticas médias durante o ensaio foram de 23,8° C de temperatura e 62% de umidade relativa do ar.

Foram realizadas avaliações visuais de fitotoxicidade, no sétimo e décimo quinto dia após a aplicação dos tratamentos herbicidas, seguindo a escala percentual em que zero representou ausência de dano e 100%, morte das plantas (FRANS et al., 1986). Ao final do décimo oitavo dia, realizou-se a contagem do número de plantas por vaso; a coleta de parte aérea das plantas para determinação de massa fresca (MF) e, após secagem em estufa a 60°C até massa constante, a determinação de massa seca (MS) de plantas.

Os dados obtidos foram testados quanto ao atendimento dos pressupostos do modelo de análise da variância. A variável fitotoxicidade visual sofreu transformação dos valores $yt = \arcseno\sqrt{(y+0,5)/100}$ para normalizar os dados (RIBOLDI, 1995). Em seguida foram submetidos à análise da variância (ANOVA) para verificação das

interações entre os fatores, e posteriormente, para os casos com interações significativas, os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo log-logístico, usando-se o modelo proposto por Seefeldt et al. (1995).

$$Y = C + \left(\frac{D - C}{1 + e^{[b(\log(x) - \log(I_{50}))]}} \right) \quad [1]$$

onde D representa o limite superior, C representa o limite inferior, o parâmetro b descreve a inclinação da curva em torno do I_{50} e os valores de I_{50} correspondem à dose que causa resposta de 50% da assíntota de máxima da variável resposta.

Os parâmetros inicialmente exigidos na equação foram obtidos pela plotagem dos dados de fitotoxicidade (%) da percentagem de massa verde (MV) e massa seca (MS) de plantas em relação à testemunha.

Resultados e Discussão

A fitotoxicidade do herbicida sobre as plântulas de arroz irrigado foi observada logo após a emergência das plantas, aproximadamente sete dias após a aplicação do herbicida. Os sintomas foram o branqueamento das folhas seguido de uma eventual morte da planta, principalmente nas doses mais elevadas de clomazone.

Após testar todas as interações possíveis dos fatores analisados no ensaio, verificou-se que não houve efeito de cultivares (IRGA 417 e IRGA 409) pelo teste F ($P \leq 0,05$), em todas variáveis analisadas. Assim, as curvas foram construídas tomando-se a média das duas cultivares. A semelhança de tolerância entre as cultivares pode estar relacionada com a similar capacidade de metabolizar o produto, pois possuem os mesmos ancestrais em comum (MARCHESAN, 2006). Nesse contexto (SCHERDER et al., 2004), mostraram que há diferença na

metabolização do clomazone entre cultivares em função da sua base genética. Dentre as cultivares semeadas no Estado do RS apenas seis ancestrais contribuem com 86% dos genes presentes (RANGEL et al., 1996), demonstrando assim a estreita base genética entre os cultivares, apresentando um alto grau de parentesco e de similaridade de suas características agronômicas, morfofenológicas e morfofisiológicas. Dentro desse grupo de parentesco estão as cultivares IRGA 409 e IRGA 417 e num grupo distante a este fazem parte as cultivares com características japônicas (GUIDOLIN, 1993).

A Figura 1 apresenta o efeito biológico da aplicação do clomazone sobre as variáveis fitotoxicidade aos 15 DAT, massa verde de parte aérea e massa seca de parte aérea. No solo com textura arenosa com baixo teor de matéria orgânica a fitotoxicidade foi maior comparativamente ao solo de textura argilosa e maior teor de matéria orgânica, demonstrando que o efeito biológico do clomazone tem alta correlação com a textura do solo. A partir do modelo Log-logístico, pode-se observar os valores de D e C, onde esses apresentam o máximo percentual de fitotoxicidade causado pelo herbicida e a variável C relaciona-se a fitotoxicidade mínima apresentada pelas plantas de arroz quando submetidas à aplicação de doses de clomazone. Porém, o valor mais preciso para comparação entre os tratamentos em uma curva log-logística é a dose que causou 50% de dano nas plantas de arroz I_{50} (g i.a. ha⁻¹). Avaliando-se os valores de FT_{50} , MV_{50} e MS_{50} (Tabela 1), percebe-se que há diferença no comportamento do clomazone nos solos avaliados, pois as plantas semeadas no solo arenoso apresentaram menor tolerância ao herbicida quando comparadas com as semeadas no solo argiloso.

A seletividade do clomazone nos diferentes tipos de solo pode ser verificada nos resultados do fator de seletividade (FS) para cada solo. Para causar 50% de

redução nos valores de FT_{50} o valor do fator de seletividade (FS) foi de aproximadamente 3,00 em solo argiloso, ou seja, foi necessário triplicar a dose de clomazone (g de i.a. ha^{-1}) para atingir 50% de redução na fitotoxicidade nas plantas, em relação ao solo arenoso com baixo teor de matéria orgânica. Os valores do fator de seletividade (FS) para as variáveis MV_{50} e MS_{50} , ficaram em torno de 2,00, neste sentido pode-se inferir que a dose de clomazone em solo argiloso e com alto teor de matéria orgânica, deve ser o dobro da dose, para o solo com característica arenosa e baixo teor de matéria orgânica.

Entretanto, deve-se observar que o aumento de dose de clomazone pode proporcionar incremento de fitotoxicidade à cultura, o que impõe cuidados na utilização desse herbicida em solos arenosos que promoveu menor I_{50} que os solos argilosos, mesmo quando as plantas estavam protegidas pelo dietholate. A fitotoxicidade de um herbicida a uma cultura está relacionada há uma gama de fatores, dentre estes se destacam a capacidade da planta em metabolizar o ingrediente ativo deste agroquímico, das condições agroclimáticas no momento da aplicação e da disponibilidade do herbicida na solução do solo (CUMMING et al., 2002). Essa característica está diretamente relacionada aos herbicidas com eficiência no controle de plantas daninhas em pré-emergência.

Esses resultados sugerem que em solo arenoso o herbicida clomazone encontra-se solubilizado na solução do solo, conseqüentemente, mais disponível para a absorção pelas plantas que em solo argiloso que apresenta maior I_{50} . Isso permite inferir que são necessárias doses superiores de clomazone em solo argiloso que em solo arenoso, para obterem-se níveis eficientes de controle da população infestante e causar fitotoxicidade ao arroz. A concentração de herbicida na água do

solo é primeiramente dependente da dissolução na fase líquida, da adsorção nos componentes do solo, da lixiviação, e da degradação (GAILLARDON et al., 1991).

Há trabalhos que relatam que a textura do solo estaria relacionada com a porcentagem de matéria orgânica no solo, ou seja, solo argiloso apresentaria maior porcentagem de material orgânico que em solo arenoso, devido menores perdas de minerais por lixiviação (MERVOSH et al., 1995). A maior porcentagem de matéria orgânica encontrada no solo argiloso é pelo fato das partículas desse material apresentar em um tamanho menor, com maior área de contato, facilitando assim a ligação e adsorção dos minerais orgânicos. Dessa forma esses compostos não são lixiviados para a solução do solo ou perdidos por escoamento superficial, como ocorre em solos arenosos.

Os resultados de maior tolerância do clomazone em solo argiloso corroboram aqueles obtidos por (LEE et al., 2004). Eles afirmam que a maior tolerância das plantas de arroz ao clomazone no solo argiloso, deve-se a menor disponibilidade do herbicida às plantas pelo fato do clomazone estar adsorvido à matéria orgânica do solo. CUMMING et al. (2002) verificaram que os níveis de umidade e textura do solo estão relacionados com a fitotoxicidade causada pelo clomazone no arroz irrigado. Nesse sentido, (LEE et al., 1998) sugeriram que a quantidade disponível do herbicida na solução do solo poderia variar com os volumes de água presentes no solo, com o incremento da fitotoxicidade quando se aumenta o potencial de água no solo, devido à solubilidade em água do clomazone. LEE et al. (2004), analisando a aplicação de clomazone e seu efeito em solos com características distintas, concluíram que a quantidade total do herbicida encontrada na solução do solo foi maior no solo arenoso, pois este apresentava baixo teor de matéria orgânica.

Buscando aprimorar a eficiência técnica do clomazone no controle de algumas espécies daninhas da lavoura orizícola, têm-se utilizado doses elevadas de ingrediente ativo clomazone, para alcançar resultados agronomicamente eficientes. Entretanto, doses elevadas do herbicida clomazone podem ocasionar fitotoxicidade ao arroz. Assim, para aumentar a seletividade ao arroz, lança-se mão do protetor de plantas dietholate impedindo a ativação do clomazone na planta até uma determinada dose, assim o clomazone na forma herbicida não causa fitotoxicidade ao arroz.

Analisando-se as curvas com e sem protetor dietholate para o solo arenoso e argiloso, apresentadas na Figura 1, com seus respectivos valores de I_{50} para cada variável (Tabela 1), constata-se que as plantas de arroz toleraram maiores doses de clomazone quando submetidas ao tratamento de semente com dietholate, independentemente do tipo de solo e da variável analisada, conforme comparação dos valores de I_{50} sem e com tratamento dietholate. Analisando as curvas, verifica-se que a curva solo arenoso com dietholate está próxima da curva solo argiloso sem dietholate, demonstrando a semelhança em relação à tolerância do clomazone. Verifica-se que o efeito protetor do dietholate para solo arenoso, foi semelhante ao efeito de adsorção do herbicida no solo argiloso, porém se ressalta que esses resultados mostram somente a seletividade do clomazone no solo arenoso com dietholate e solo argiloso sem dietholate, pois em solo argiloso o efeito adsorção do clomazone, implica em menor disponibilidade do herbicida às plantas, acarretando em decréscimo na eficiência no controle de plantas daninhas. Assim, mesmo em solos argilosos, é necessário utilizar o protetor dietholate para aumentar a seletividade do clomazone em doses elevadas. A capacidade do dietholate de proteger o arroz em doses de clomazone foi mais visível no solo arenoso, pois se

conseguiu duplicar a dose de clomazone, segundo os valores referentes a FT_{50} , MV_{50} e MS_{50} , e seus respectivos fatores de proteção (FP). Os valores de FP presentes, mostram quantas vezes pode-se elevar a dose do clomazone no tratamento com dietholate, para causar o mesmo efeito nas plantas de arroz quando comparada com o tratamento sem dietholate. Assim, sabendo-se que a disponibilidade do clomazone em solo arenoso é maior, torna-se indispensável o uso do protetor (safener) nesse tipo de solo, para usar-se com segurança as doses necessárias ao controle.

Sugere-se que quando houver a necessidade do uso de doses elevadas de clomazone, independentemente do solo e da cultivar, recorra-se ao tratamento de semente com dietholate, uma vez que este irá proporcionar maior tolerância do arroz a este herbicida. Essa seletividade pode ser descrita pelo fato do dietholate inibir a ação de uma forma específica da enzima Citocromo P-450 monooxigenase, ocasionando a não ativação do ingrediente ativo do clomazone. Dessa forma, não haverá a formação da molécula herbicida, tornando assim as plantas oriundas de sementes tratadas, tolerantes ao herbicida.

Tabela 1. Doses de clomazone, em g i.a. ha⁻¹, que causam 50% de fitotoxicidade (FT₅₀), 50% de redução de massa verde da parte aérea (MV₅₀) e 50% de redução de massa seca da parte aérea (MS₅₀), e respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade, em função do tipo de solo e do uso do protetor dietholate. Santa Maria, RS, 2009

	Protetor	Tipo de solo		FS ³
		Arenoso ¹	Argiloso ²	
FT ₅₀	Sem dietholate	395,91 ± 10,11	1243,01 ± 25,72	3,45
	Com dietholate	1065,07 ± 40,36	2299,2 ± 101,68	5,05
	FP ⁴	2,06	3,02	
MV ₅₀	Sem dietholate	270,73 ± 6,91	796,34 ± 36,50	2,94
	Com dietholate	718,86 ± 27,49	2054,90 ± 195,11	2,86
	FP	2,65	2,58	
MS ₅₀	Sem dietholate	279,36 ± 27,78	940,76 ± 65,23	3,37
	Com dietholate	781,62 ± 85,46	2051,48 ± 193,42	2,62
	FP	2,80	2,18	

¹Solo pertence a unidade de mapeamento Vacacaí, com 16% de argila e 1,6% de matéria orgânica.

²Solo pertence a unidade de mapeamento Aceguá, com 43% de argila e 3,2% de matéria orgânica.

³FS - Fator de seletividade em solo argiloso comparado com o solo arenoso.

⁴FP - Fator de proteção do dietholate calculado a partir da razão dos I₅₀ dos tratamentos com protetores pelo tratamento sem protetor, em relação a FT₅₀; EST₅₀; MF₅₀ e MS₅₀ em plantas de arroz.

A tecnologia clomazone/dietholate, responsável pelo uso de doses de clomazone acima da recomendação técnica do arroz irrigado, já eram trabalhadas em outras culturas, como no milho, onde KARAM et al. (2003), concluíram em suas pesquisas que dietholate diminuiu os efeitos fitotóxicos da aplicação de clomazone nas plantas da cultura. Neste contexto, (YAZBEK JÚNIOR & FOLONI, 2004), avaliaram o efeito de diferentes doses de dietholate como safener no algodoeiro, concluindo que determinadas doses resultaram em um excelente grau de seletividade do clomazone nas plantas de algodão.

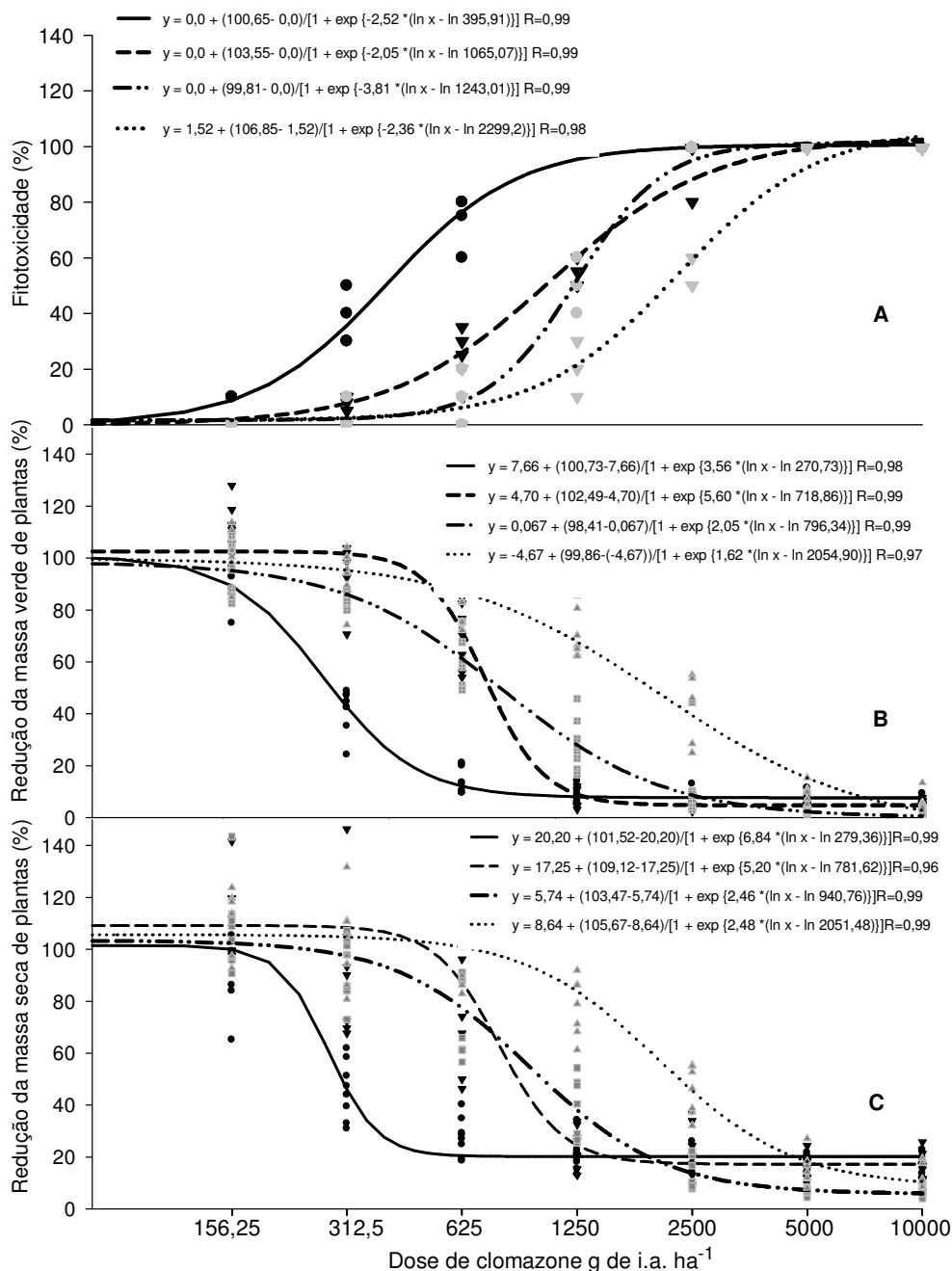


Figura 1. Curvas de dose-resposta de clomazone e o efeito do tipo de solo, (—) solo arenoso sem dietholate; (- -) solo arenoso com dietholate; (-·-·) solo argiloso sem dietholate; (·····) solo argiloso com dietholate, na fitotoxidade (A), massa verde de plantas (B) e na massa seca de plantas (C) de arroz irrigado, na média de duas cultivares. Santa Maria, RS, 2009.

A seletividade de doses elevadas de clomazone no arroz pelo uso do dietholate é alcançada devido à inibição de uma enzima específica da Citocromo P-450 monooxigenase, enzima esta responsável pela oxidação do clomazone, o que confere ação herbicida às plantas suscetíveis (FERHATOGLU et al., 2006). A ação do dietholate como safener, é descrita por (FERHATOGLU et al., 2005), onde esse produto inibe a enzima Citocromo P-450 monooxigenase antes que essa oxide a molécula do clomazone, assim, não havendo oxidação, não ocorre a formação do 5-ceto clomazone, composto realmente responsável pela inibição da síntese dos carotenóides nas plantas (CULPEPPER et al., 2001).

Observa-se que há na literatura uma gama de trabalhos que relatam o uso e o mecanismo de ação do dietholate na cultura do milho e algodão, porém existe a deficiência de informação desse produto para o arroz irrigado. Assim, destaca-se a importância dos resultados obtidos neste trabalho para aprimorar o conhecimento da aplicação de doses superiores de clomazone e o uso do protetor dietholate para aumentar a seletividade no arroz.

Conclusão

As cultivares IRGA 409 e IRGA 417 são igualmente sensíveis ao clomazone.

O herbicida clomazone causa maior fitotoxicidade no arroz cultivado em solo com textura arenosa.

A aplicação de dietholate em solo arenoso com baixo teor de matéria orgânica e solo argiloso com alto teor de matéria orgânica permite aumentar em até 2,5 vezes a dose de clomazone, sem causar danos à cultura.

CAPÍTULO II

PHORATE E DIETHOLATE PROTEGEM O ARROZ DA FITOTOXICIDADE DO CLOMAZONE EM DOSES ELEVADAS

PHORATE AND DIETHOLATE ACT AS SAFENERS FOR RICE ON CLOMAZONE IN HIGHER RATE APPLICATION

Resumo

O herbicida clomazone tem sua seletividade em plantas de arroz aumentada quando as sementes recebem o protetor de plantas dietholate. Sabendo-se que o dietholate atua sobre a atividade da enzima Citocromo P-450 monooxigenase e que essa é responsável pela ativação do clomazone, busca-se outros produtos que possam ser utilizados como protetor. Em vista disto, o objetivo deste experimento foi o de avaliar o efeito protetor do dietholate e do phorate em resposta a doses de clomazone. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições em esquema fatorial. O Fator A foi composto pelo tratamento de semente com dietholate e phorate, além de uma testemunha que não recebeu protetor nas sementes. O Fator B foi composto por oitos doses de clomazone (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 e 10000 g i.a. ha⁻¹). Aos dezoito dias após a semeadura, foram avaliadas a fitotoxicidade, o percentual de redução da estatura, massa fresca e seca das plantas de arroz. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância. Houve diferença entre a testemunha sem protetor e os tratamentos de sementes com os protetores dietholate e phorate. Analisando as curvas de dose-resposta, verifica-se que quando a cultivar IRGA 417 foi tratada com dietholate ou com phorate ambos protegeram as plântulas de arroz, ou seja, toleram maiores doses de clomazone. Assim há evidências que os protetores de plantas dietholate e phorate atuaram como inibidores da enzima Citocromo P-450, impedindo que esta enzima ativa-se o clomazone nas plantas de arroz, proporcionando maior seletividade deste herbicida quando comparado a testemunha que não recebeu proteção.

Palavras-chave: Arroz; Citocromo P-450; Clomazone; Dietholate; Phorate; Protetores de plantas.

Abstract

Clomazone has its selectivity increased on rice plants when the seeds is treated with safener dietholate. Assuming that dietholate acts on the activity of the cytochrome P450 monooxygenase and this is responsible for the activation of clomazone, it can be searched for other chemicals that can act as safener. For this reason, an experiment was conducted aiming to evaluate the protective effect of dietholate and phorate in response to clomazone rates. The experimental was conducted in a randomized block design with four replication in a factorial scheme. The Factor A included seeds untreated and treated with dietholate and with phorate. The Factor B included eight clomazone rates (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 and 10000 g i.a. ha⁻¹). Eighteen days after sowing it was evaluated plant injury, the percentage of reduction on plant height, fresh mass and dry mass weight. The data were submitted to the analysis of the variance. It had significant difference between the the check without protector and the treatments of seeds with the protectors dietholate and phorate. The dose-response curves showed that when rice was treated with either dietholate or phorate rice plants tolerate higher rates of clomazone when compared to the untreated check. Thus, it is an evidence that dietholate and phorate, have inhibited the enzyme cytochrome P-450, hindering the activation of clomazone in the rice plants.

Key words: Rice; cytochrome P-450; Clomazone; Dietholate; Phorate; Safener.

Introdução

Protetores de plantas, ou safeners, são produtos químicos usados com a finalidade de promover a seletividade de herbicidas, através da proteção da cultura à fitotoxicidade do herbicida, sem reduzir a eficiência no controle das plantas daninhas. Porém, a funcionalidade dos protetores às culturas está condicionada ao grupo químico do produto (DAVIES et al., 1999), à reação química envolvida entre o protetor e a planta a ser protegida (CHANG et al., 1971) e às enzimas que estão envolvidas nesse processo (TENBROOK et al., 2006). Além desses fatores, é fundamental o conhecimento do mecanismo de ação do herbicida a ser protegido pelo respectivo protetor, como no presente caso, o clomazone, necessita de uma enzima específica que o ative, para que haja a ação herbicida nas populações

sensíveis. Assim, o protetor utilizado para o clomazone deverá possuir especificidade sobre a ação dessa enzima ativadora, para bloquear a transformação da molécula clomazone em herbicida ativo nas plantas em que se deseja obter seletividade (FERHATOGLU et al., 2005).

A descoberta do efeito “protetor” de alguns compostos sobre a ação herbicida ocorreu na década de 40 de forma acidental, onde plantas de tomate tratadas com o herbicida 2,4,6-T não sofreram fitotoxicidade quando expostas a vapor do herbicida 2,4-D acidentalmente (DAVIES et al., 1999). Baseado nesta descoberta, Hollfman (1962) idealizou o uso de antídotos ou protetores que possibilitassem aumentar a seletividade de herbicidas a plantas normalmente sensíveis aos herbicidas.

Apesar dos efeitos de alguns protetores encontrados no mercado de agroquímicos já terem sido comprovados, os mecanismos fisiológicos e bioquímicos exatos envolvidos na seletividade ainda não estão totalmente esclarecidos (EZRA et al., 1983). Segundo (KOTOULA-SYKA et al., 1996) o protetor anidrido naftálico protege culturas gramíneas do dano causado por herbicidas, devido à redução na possibilidade das moléculas do produto em atingir e se ligar ao seu local de ação. Nesse contexto (FERREIRA et al., 2001) relatam que os protetores aumentam a capacidade das culturas na destoxificação de herbicidas por uma variedade de mecanismos, através do aumento da atividade de enzimas monooxigenases dependentes do Citocromo P450, glutathione S-transferase (GST), esterases e UDP-glicosiltransferase. Segundo Cole et al. (1987), as estruturas dos herbicidas e seus derivados servem como substratos para a enzima GST em várias espécies. Os produtos da conjugação com a GST, atuando no radical cloro ou enxofre das moléculas, representam os principais metabólitos em milho e outras gramíneas (LAMOUREUX et al., 1979, MOZER et al., 1983, e DEAN et al., 1990). Os mesmos

autores relataram ainda o aumento da atividade de GST em resposta ao efeito de protetores na desintoxicação de herbicidas.

Outras hipóteses levantadas para esclarecer os possíveis mecanismos de ação dos protetores, sugerem a redução da absorção e translocação de herbicidas para o sítio de ação da planta, aumentando a capacidade de metabolização e desintoxicação (VARVINA, 1987). Além disso, os protetores também podem prevenir a fitotoxicidade através da sua ligação ao sítio de ação do herbicida e/ou na produção de efeito antagônico ao produto em nível fisiológico (HATZIOS, 1989).

A utilização de protetores vem conquistando destaque no cenário orizícola, pois, além de viabilizar alguns herbicidas já existentes no mercado não seletivos à cultura, podem ampliar seu uso a outras culturas consideradas sensíveis (ALVES, 2004). Nesse contexto, há registrado para a cultura do arroz irrigado, o protetor dietholate, que permite ao arroz tolerar doses de clomazone acima da recomendação técnica para a cultura. O mecanismo envolvido nesta proteção está relacionado à inibição da enzima Citocromo P-450 nas plantas de arroz, fazendo com que não ocorra a ativação do “pré-herbicida” clomazone.

Estudos na cultura do algodão mostram que diversos inseticidas do grupo químico dos organofosforados como malation, phorate, zineb entre outros, são capazes de inibir a enzima Citocromo P-450 nas plantas tratadas, tornando-a seletiva a doses de clomazone. FERHATOGLU et al., (2005), descreve que o inseticida phorate protege o algodão contra o branqueamento, devido à redução do metabolismo do clomazone. Esse processo também é observado na cultura da soja, onde este inseticida inibiu a ação da enzima Citocromo P-450, evitando assim a formação do metabólito ativo derivado do clomazone responsável pela inibição da síntese dos carotenóides.

O uso do dietholate no tratamento de sementes confere às plantas oriundas dessas sementes tolerância a maiores doses de clomazone (KARAM et al., 2003), essa maior tolerância a doses usuais é observada em solos mais leves. A enzima Citocromo P-450 monooxigenase nas plantas possui a função de detoxificação, porém, para na molécula de clomazone, essa enzima é a responsável pela sua oxidação, tornando-a então mais tóxica às plantas que possuem maior capacidade de oxidação (YUN et al., 2005).

Observa-se na literatura diversos estudos que relacionam o uso de protetores para o uso de clomazone em culturas como algodão, milho e soja, sendo necessário o desenvolvimento de estudos para a proteção do arroz irrigado da fitotoxicidade de clomazone. A disponibilidade de um maior número de compostos capazes de exercer o papel protetor ao arroz contra a ação do herbicida clomazone pode representar mais opções em termos de custo e eficiência.

Buscando ampliar as evidências de que a ação protetora do dietholate consiste de fato na inibição da enzima Citocromo P-450 monooxigenase, assumiu-se que outros compostos presumidamente inibidores dessa enzima, também poderiam aumentar a seletividade do clomazone ao arroz. Além disso, compostos potencialmente alternativos ao dietholate estariam sendo testados para uma possível utilização no futuro com a finalidade de aumentar a seletividade à cultura.

Em vista do exposto, foi desenvolvido um experimento com o objetivo de avaliar a atividade protetora de phorate, comparativamente à do dietholate contra a fitotoxicidade do clomazone à cultura do arroz irrigado.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, durante o ano de 2008. Na condução do experimento utilizaram-se vasos de polietileno de 1,4 L de capacidade, revestidos com sacos plásticos transparentes a fim de evitar perdas de água e herbicida no momento da irrigação e aplicação dos tratamentos. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial 3x8, com quatro repetições. Os tratamentos do fator A foram representados pelo tratamento de sementes, sendo o primeiro nível desse fator a semeadura sem tratamento com protetor, o segundo nível as sementes tratadas com dietholate e, o terceiro, o tratamento com phorate. O Fator B constou da aplicação de doses crescentes de clomazone (0, 156, 312, 625, 1250, 2500, 5000 e 10000 g i.a. ha⁻¹). A cultivar de arroz utilizada foi a IRGA 417.

O solo foi coletado em uma profundidade de (0-10cm) em área de cultivo de arroz irrigado no município de Santa Maria/RS, onde não há registro de aplicação do herbicida clomazone. O solo foi classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico arênico (SiBCS, 2006), pertencente à unidade de mapeamento Vacacaí e, de acordo com a análise química do solo, apresentava as seguintes características: pH água(1:1)=4,7; P= 6,0 mg.dm⁻³; K= 112 mg.dm⁻³; Argila= 16%; M.O.= 1,6%; Ca= 2,2 cmolc.dm⁻³; Mg= 2,0 cmolc dm⁻³; Al=1,7 cmolc dm⁻³ e índice SMP 6,6.

Nos vasos revestidos com sacos plásticos foi adicionado 1200g de solo úmido, de onde se retirou seis amostras aleatórias para medição da umidade gravimétrica a fim de determinar a quantidade de água presente no solo no momento do enchimento dos vasos. A capacidade de campo foi determinada

através da metodologia descrita no manual de métodos análises de solo (EMBRAPA, 1997). Assim, para obter uma uniformidade de irrigação durante o ensaio, usou-se o resultado médio da umidade gravimétrica das amostras coletadas no momento do enchimento dos vasos, para conhecer o peso real de solo seco que foi colocado nos vasos. O resultado da análise apresentou 4,75% de umidade, sendo esse valor posteriormente descontado da quantidade de solo úmido que foi colocado no vaso.

A quantidade de água necessária para cada unidade experimental foi determinada através da metodologia de coluna úmida (FORSYTHE, 1975), a partir de um tubo de PVC com 20 mm de diâmetro por 50 cm de comprimento, onde se acrescentou uma quantidade determinada de água e aguardou-se a percolação total da mesma dentro do tubo. Após a saturação foi retirada uma amostra de dentro do tubo e calculada a umidade gravimétrica, a partir da qual se determinou a capacidade de campo do solo. Sabendo-se a massa do vaso, a massa de solo seco contida no vaso, a massa total do vaso (solo + vaso) e a capacidade de campo do solo, a irrigação dos vasos será a adição de água até atingir a massa total (vaso + solo seco + 80% capacidade de campo). Este manejo foi realizado a cada dois dias, através da medição da massa de cada vaso e adicionando-se água até atingir a massa total.

A adubação do solo foi realizada a partir do resultado da análise química do solo e seguindo as recomendações para a cultura do arroz irrigado. Para cada 100 kg de solo foram adicionados 20g de uréia, 5g de P₂O₅ e 3g de KCl. Após a adição dos fertilizantes o solo foi homogeneizado através de um misturador centrífugo. Os tratamentos de semente foram realizados com dietholate (0,0-diethyl 0-phenyl phosphorothioate) (SENSEMAN, 2007), que pertence ao grupo químico éster do

ácido fosfórico, registrado com o nome comercial de PERMIT (500 g i.a. kg^{-1} de produto formulado) junto ao ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sob o número de registro 00801, de 8/2001 (Brasil, 2002). A dose utilizada de dietholate foi de 1000 g de produto comercial por 100 kg de semente. O segundo tratamento de sementes foi realizado com um inseticida phorate pertence ao grupo químico dos organofosforados e foi utilizado no ensaio com a finalidade de demonstrar cientificamente a ação de organofosforado sobre a enzima Citocromo P-450, responsável pela ativação do clomazone. O tratamento de sementes com phorate constou da diluição do produto em solução contendo água e polímero orgânico, para melhor aderir à semente de arroz. A dose desse produto foi de dois gramas de ingrediente ativo do organofosforado phorate para dez gramas de semente da cultivar IRGA 417 ($20 \text{ kg } 100 \text{ kg}^{-1}$ semente). Após a homogeneização da solução com as sementes foi adicionado mais 1 mL de polímero para melhorar a adesão do produto com a semente.

A semeadura nos vasos ocorreu em 15 de outubro de 2008, a uma profundidade de aproximadamente 1 cm. A aplicação dos tratamentos herbicidas em pré-emergência do arroz ocorreu no dia 16 de outubro de 2008. No momento da aplicação, a temperatura média do ar era de 27°C e a umidade relativa média do ar era de 60%. A aplicação dos tratamentos com herbicida foi realizada fora da estufa, com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado a CO_2 , munido de uma barra com 1,5 metros de comprimento, com quatro pontas espaçadas a 0,5m. Após a aplicação, os vasos permaneceram fora da casa de vegetação por um período de 24 horas, para evitar a contaminação dos tratamentos através da volatilização do clomazone. Após esse período, os vasos retornaram para dentro do ambiente protegido, recebendo irrigação a cada dois dias, por dezessete dias. As condições

climáticas médias durante o ensaio foram de 25° C de temperatura e 65% de umidade relativa do ar.

Foram realizadas avaliações visuais de fitotoxicidade, no décimo quinto dia após a aplicação dos tratamentos herbicidas, seguindo a escala percentual em que zero% representou ausência de dano e 100%, morte das plantas (FRANS et al., 1984). Ao final do décimo oitavo dia realizou-se a contagem do número de plantas por vaso, a coleta das plantas para determinação de massa fresca de plantas (MF), a medição da estatura de plantas (EST) e, após secagem em estufa a 60°C até massa constante, a massa seca (MS) de plantas.

Os dados obtidos foram testados quanto ao atendimento às pressuposições do modelo de análise da variância. Em seguida foram submetidos à análise da variância (ANOVA) para verificação das interações entre os fatores e entre os níveis do fator A. Complementar a esta análise, utilizou-se o teste de Tukey ($P \leq 0,01$) e posteriormente, para as interações significativas, os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo log-logístico, usando-se o modelo proposto por Seefeldt et al., (1995).

$$Y = C + \left(\frac{D - C}{1 + e^{[b(\log(x) - \log(X_{50}))]}} \right) \quad [1]$$

onde D representa o limite superior, C representa o limite inferior, o parâmetro b descreve a inclinação da curva em torno do I_{50} e os valores de I_{50} correspondem à dose que causa resposta de 50% da assíntota de máxima da variável resposta.

Os parâmetros exigidos na equação foram obtidos através da plotagem dos dados de fitotoxicidade (FITO %) da redução em percentagem de massa verde (MV), estatura de plantas (EST) e massa de matéria seca (MS) de plantas em relação à

testemunha. A variável fitotoxicidade visual sofreu transformação dos valores $yt = \arcseno\sqrt{(y+0,5)/100}$ para normalizar os dados (RIBOLDI, 1995).

Para determinação de um valor que possibilitaria verificar a quantidade de vezes que permitisse aumentar a dose do clomazone, comparando o tratamento sem protetor com o dietholate e o phorate, calculou-se um coeficiente que chamamos de fator de proteção (FP). Este valor baseia-se na razão entre os valores do FT_{50} , EST_{50} , MF_{50} e MS_{50} dos tratamentos contendo dietholate e phorate com os respectivos valores para o tratamento sem protetor.

Resultados e Discussão

Para fitotoxicidade de plantas (Figura 2A), a curva de dose resposta de plantas de arroz ao clomazone demonstra que há um aumento de fitotoxicidade com o aumento da dose do herbicida, destacando-se naquelas plantas que não receberam protetor. A adição do protetor dietholate e phorate proporcionou proteção às plântulas de arroz que demonstraram menor fitotoxicidade quando comparadas com as plantas não tratadas. Dessa forma, para as plantas não tratadas, a dose que causou 50% de fitotoxicidade de plantas (FT_{50}) (Tabela 2) foi de 433 g i.a. ha^{-1} , sendo que a adição de dietholate ou phorate fez com que a planta de arroz tolerasse em torno do dobro da dose de clomazone.

A estatura de plantas (Figura 2B) também foi afetada pela aplicação de clomazone, em especial naquelas plantas que não receberam tratamento com protetor. Para esta variável a dose que reduziu 50% da estatura de plantas foi de 315 g i.a. ha^{-1} , e a adição dos protetores proporcionaram a possibilidade de quadruplicar a dose de clomazone com o mesmo efeito na estatura de planta.

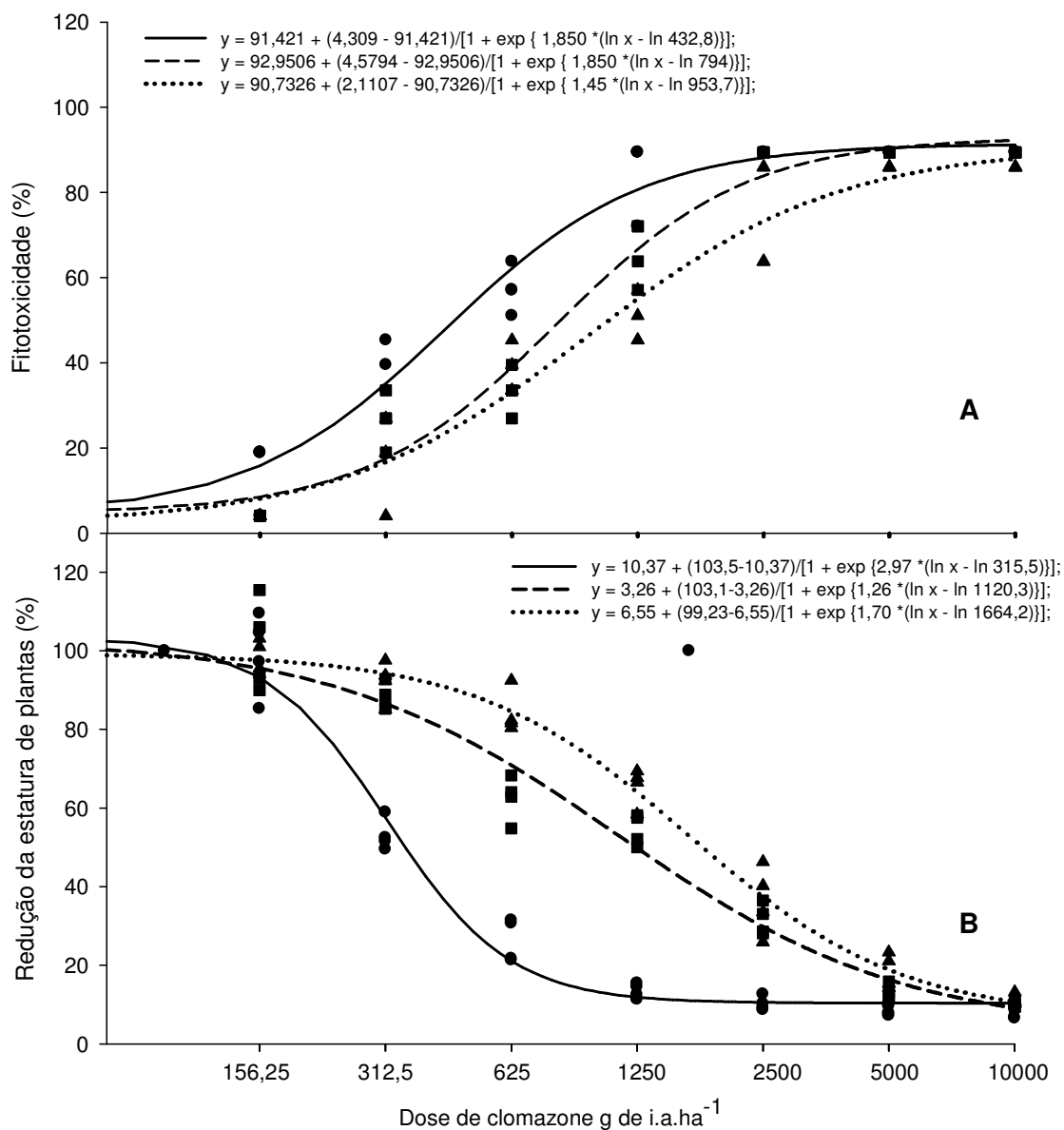


Figura 2. Curvas de dose-resposta do arroz irrigado (Cultivar IRGA 417) ao herbicida clomazone, sem a adição de protetor (—), com o protetor dietholate (- - -) e com o protetor phorate (...), ambos aplicados como tratamento de sementes. Fitotoxicidade (A) e redução da estatura de plantas (B). Santa Maria, RS, 2009.

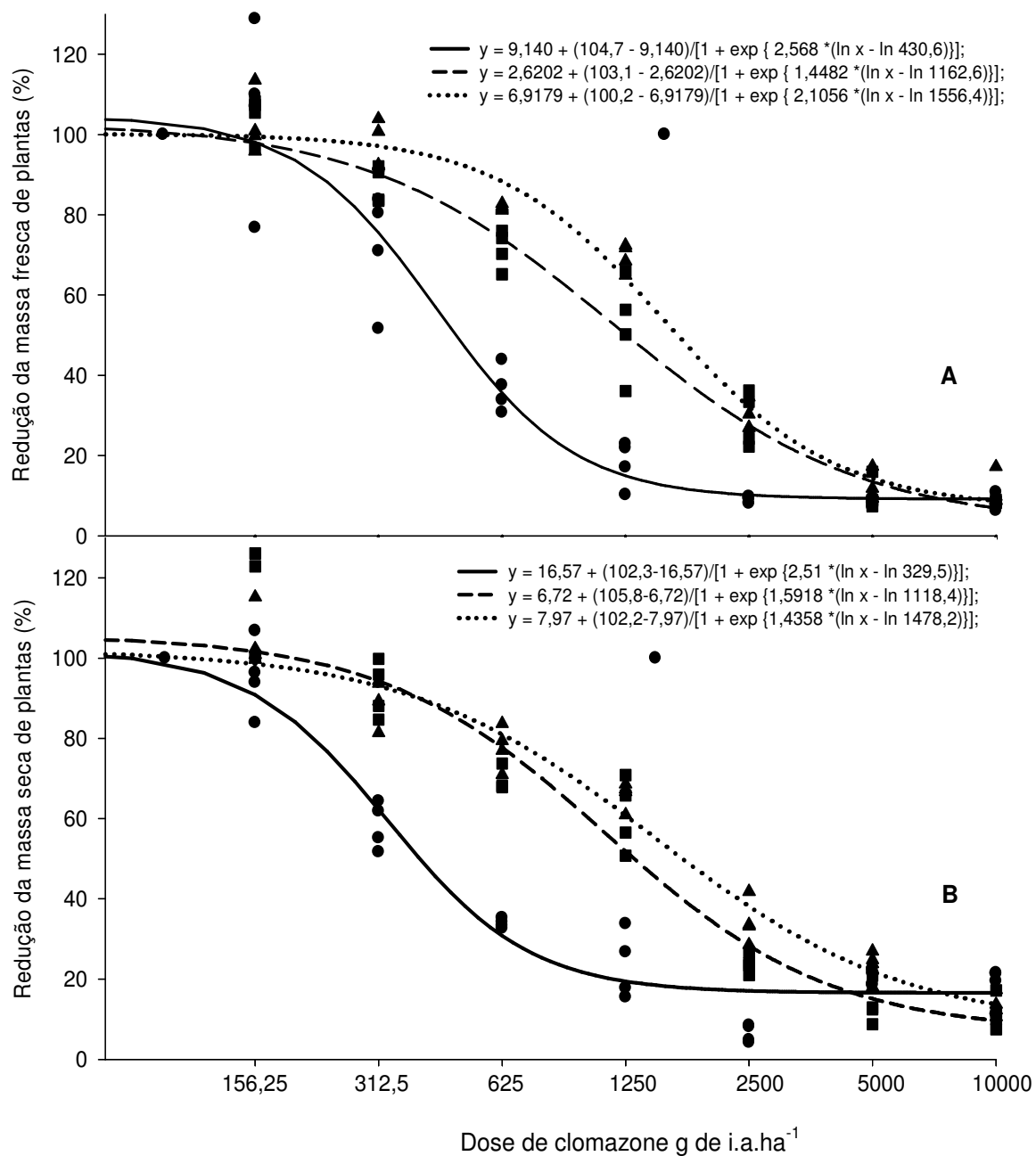


Figura 3. Curvas de dose-resposta do arroz irrigado (Cultivar IRGA 417) ao herbicida clomazone, sem a adição de protetor (—), com o protetor dietholate (- - -) e com o protetor phorate (·····), ambos aplicados como tratamento de sementes. Redução da massa fresca (A) e de massa seca de plantas (B). Santa Maria, RS, 2009.

Para massa fresca de plantas (Figura 3A) e massa seca de plantas (Figura 3B), a mesma tendência dos parâmetros apresentados anteriormente foi verificada. Sendo a dose que causa 50% de redução de massa fresca (MF_{50}) ser de 353 g i.a. ha^{-1} , e para massa seca (MS_{50}) de 329 g i.a. ha^{-1} , e a adição de protetor proporcionou quadruplicar a dose.

Os valores estimados de I_{50} demonstram que, para os dois protetores utilizados dietholate e phorate, as doses necessárias, para causar 50% de redução da variável dependente, foram maiores que aquelas do tratamento sem protetor (Tabela 2), independentemente da variável avaliada (fitotoxicidade, massa fresca de plantas, massa seca e estatura de plantas de arroz). Quando comparados os valores de I_{50} do tratamento com dietholate versus o tratamento com phorate, não é evidenciada diferença significativa entre os tratamentos, pois os intervalos de confiança se sobrepõem.

Tabela 2. Doses de clomazone em g i.a. ha^{-1} que causam 50% de fitotoxicidade (FT_{50}), 50% de redução da estatura de planta (EST_{50}), 50% de redução de massa fresca de plantas (MF_{50}) e 50% de redução de massa seca de plantas (MS_{50}) e seus respectivos intervalos de confiança em 95% de probabilidade em função do tratamento de semente com protetores. Santa Maria, RS, 2009.

	FT_{50}	EST_{50}	MF_{50}	MS_{50}
Sem protetor	432,8 ± 60,3	315,3 ± 30,1	353,7 ± 76,9	329,5 ± 49,4
Dietholate	794,0 ± 122,8	1120,3 ± 300,4	1162,6 ± 249,5	1118,4 ± 302,2
Phorate	953,7 ± 227,0	1664,2 ± 248,8	1556,4 ± 197,7	1478,2 ± 333,4
	Fator de proteção			
Dietholate	1,83	3,55	3,28	3,39
Phorate	2,20	5,24	4,40	4,48

³ FP- Fator de proteção do dietholate calculado a partir da razão dos I_{50} dos tratamentos com protetores pelo tratamento sem protetor, em relação a FT_{50} ; EST_{50} ; MF_{50} e MS_{50} em plantas de arroz.

Os valores do fator de proteção (FP) calculado para cada protetor, demonstra quanto se pode aumentar a dose do herbicida para obter o mesmo nível de I_{50} nas

variáveis (FT, EST, MF e MS) em relação as plantas não tratadas. Verifica-se que o fator de proteção para a variável FT_{50} foi de 1,83 e 2,20, respectivamente para dietholate e phorate.

Para a variável estatura de plantas, o tratamento com protetor de plantas phorate proporcionou maior proteção às plantas, tolerando até cinco vezes a dose de clomazone (g de i.a. ha^{-1}) comparando ao tratamento sem protetor. Apesar de não haver diferença estatística significativa entre os protetores dietholate e phorate, verifica-se que phorate apresentou proteção que possibilitou incrementar em quatro vezes a dose do herbicida para um mesmo MF_{50} enquanto que para dietholate a dose foi aproximadamente três vezes maior que aquela que causou 50% de redução na massa fresca.

Comparando-se as variáveis analisadas, verifica-se que os valores de para a variável FT_{50} , estão abaixo das demais variáveis (EST_{50} , MF_{50} e MS_{50}), independente do tratamento protetor. Estes resultados podem estar relacionados pela subjetividade da avaliação, pois o FT_{50} baseia-se em uma análise visual da fitotoxicidade das plantas de arroz. Além disso, pode estar relacionado à menor densidade de plantas devido à morte das mesmas (dados não mostrados), essa morte de plantas pode ter reduzido a competição entre as plantas de arroz e assim proporcionou maior massa seca daquelas sobreviventes.

Os resultados deste experimento corroboram com os obtidos por Concenço et al. (2006) que observaram em seus experimentos com clomazone em solos com característica semelhante a este ensaio que doses acima de 300 g i.a. ha^{-1} de clomazone acarretou diminuição significativa na densidade populacional da plantas, aumentando o grau de fitotoxicidade. Segundo O'Barr et al. (2007) e Willingham et al. (2008) a fitotoxicidade de clomazone em doses acima de 340 g de i.a. ha^{-1} de

clomazone em solos arenosos proporcionou aumento da fitomassa verde e seca por plantas de arroz, devido a diminuição da competição por nutriente, luz e espaço entre as plantas, resultante da redução populacional das plantas de arroz.

O efeito protetor do dietholate e do phorate a doses superiores aquelas suportadas pelo arroz irrigado sem tratamento, pode ser explicado, em função da inibição da produção de metabólitos ativos de clomazone nessas plantas, o que impede a ação fitotóxica deste herbicida (NORMAN et al., 1990). Nesse sentido, segundo Ferhatoglu et al. (2005) a produção desses metabólitos está diretamente relacionada com as reações de oxidação e redução que ocorrem nas plantas.

Essas reações são dependentes da concentração de NADPH nas células (DENG et al., 2002). Sabe-se que a produção de NADPH é catalizada pela enzima Citocromo P-450 monooxigenase, que tem sua atividade inibida pelo dietholate e por alguns inseticidas do grupo químico dos organofosforados, dentre eles o phorate (Figura 5). Assim, inibindo a atividade da enzima Citocromo P-450, o dietholate e o phorate interferem na catalização da NADPH e na produção de metabólitos ativos do clomazone, principalmente o 5-OH-Clomazone e o 5-ceto clomazone (FERHATOGLU et al., 2005), envolvidos na rota não-mevalonato responsável pela síntese dos carotenóides, rota descrita por Dubey et al. (2003). Quando o 5-ceto clomazone entra em contato com a rota não mevalonato denominada metileritol-4-fosfato (MEP), nos plastídeos do cloroplasto, há o bloqueio da enzima deoxixilulose 5-fosfato sintase (DXP), responsável pela síntese da molécula 2CMetilDeritritol4P, precursor da molécula isopentenil. Com isso, não ocorre à formação do isopentenil, precursor da formação dos carotenóides (C₄₀) (DUBEY et al., 2003 e FERHATOGLU et al., 2006).

Portanto, com a evidência de que não só o dietholate, mas também o phorate, outro provável inibidor da enzima Citocromo P-450, também confere proteção às plantas tratadas contra a ação do herbicida clomazone, sustenta-se que o mecanismo pelo qual esses compostos exercem essa proteção, encontra-se no bloqueio da ativação do herbicida, através da sua não oxidação. Sem a oxidação da molécula do clomazone, não há a produção dos metabólitos ativos, 5-OH clomazone e 5-ceto clomazone, este último, o verdadeiro herbicida inibidor de enzima da rota de síntese dos carotenóides, a DXP sintase.

Conclusão

O organofosforado phorate é capaz de atuar como protetor na cultivar de arroz IRGA 417, contra a ação do herbicida clomazone, de forma equivalente ao protetor dietholate, conferindo à cultura a capacidade de suportar doses mais elevadas desse herbicida.

CONCLUSÃO GERAL

As cultivares IRGA 409 e IRGA 417 são igualmente sensíveis ao clomazone.

O herbicida clomazone causa maior fitotoxicidade no arroz cultivado em solo com textura arenosa.

A aplicação de dietholate permite o aumento de dose de clomazone. Em solos arenosos e argilosos pode-se obter seletividade do herbicida ao arroz irrigado com a aplicação de dietholate em tratamento de sementes.

O organofosforado phorate é capaz de atuar como protetor na cultivar de arroz IRGA 417, contra a ação do herbicida clomazone, de forma equivalente ao protetor dietholate, conferindo às plantas a capacidade de suportar doses mais elevadas desse herbicida.

REFERÊNCIAS

ALVES, E. **Atividade da enzima glutationa s-transferase induzida por herbicidas e anidrido naftálico em milho e efeito do safener na germinação e vigor das sementes**. 2004. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 12 dez. 2008.

CHANG, F. Y.; SMITH, L. W.; STEPHANSAON, G. R. Insecticide inhibition of herbicide metabolism in leaf tissue. **Journal Agriculture Food Chemistry**. Washington, v. 19, n. 6, p. 1183–1186, Nov.1971.

COLE, D. J.; EDWARDS, R.; OWEN, W. J. The role of metabolism in herbicide selectivity. In: HUTSON, D., ROBERTS, T. R. (Ed.) **Progress in pesticide biochemistry toxicology**. Chichester: Wiley, 1987. p. 57-104.

CONCENÇO, G. et al.. Efeito de herbicidas aplicados em pré-emergência e momentos de início da irrigação no crescimento de plantas de arroz. **Planta daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 295-301, maio 2006.

CULPEPPER, A. S. et al. Effect of insecticides on clomazone absorption, translocation, and metabolism in cotton. **Weed Science**, Lawrence, v. 49, n. 5, p. 613–616, Sept./Oct. 2001.

CUMMING, J. P.; DOYLE, R. B.; BROWN, P. H. Clomazone dissipation in four Tasmanian topsoils. **Weed Science**. Lawrence, v. 50, n. 3, p. 405-409, May/Jun. 2002.

DAVIES, J.; CASELEY, J. C. Herbicide safeners: a review. **Pesticide Science**. West Sussex, v. 55, n. 11, p. 1043-1058, Nov. 1999.

DEAN, J. V.; GRONWALD, J. W.; EBERLEIN, C. V. Induction of glutathione S-transferase isozymes in sorghum by herbicide antidotes. **Plant Physiology**. Rockville, v. 92, n. 2, p. 467-73, Feb. 1990.

DENG, F.; HATZIOS, K. K. Characterization of cytochrome P450- mediated bensulfuron-methyl O-demethylation in rice. **Pesticide Biochemistry Physiology**, San Diego, v. 74, n. 2, p. 102– 104, Oct. 2002.

DUBEY, V. S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R. An overview of the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **Journal Bioscience**, v. 28, n. 5, p. 637-646, Sept. 2003.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. 212.p.

EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

EZRA, G.; GRESSEL, J.; FLOWERS, H. M. Effects of the herbicide EPTC and the protectant DDCA on incorporation and distribution of [2-14]-acetate into major fractions of maize cell suspension cultures. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 19, n. 3, p. 225-234, Jun. 1983.

FERHATOGLU, Y.; AVDIUSHKO, S.; BARRET, M. The basic for safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 81, n. 1, p. 59-70, Jan. 2005.

FERHATOGLU, Y.; BARRET, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 85, n. 1, p. 7-14, May 2006.

FERREIRA, L. C.; CATANEO, A. C. Aspectos bioquímicos da ação “de safeners”. **Boletim informativo da SBCPD**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 5-6, 2001.

FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: SOUTHERN WEED SCIENCE SOCIETY. **Research methods in weed science**. 3rd ed. Champaign, 1986. p.29-45.

FORSYTHE, W. **Física de suelos: Manual de Laboratório**. San Jose: IICA, 1975. 212 p.

GAILLARDON, P. et al. Study of diuron in soil solution by means of a novel simple technique using glass microfibre filters. **Weed Research**, Oxford, v. 31, n. 6, p. 357–366, Dec. 1991.

GUIDOLIN, A. F. **Caracterização de genótipos de arroz irrigado por técnicas eletroforéticas**. 1993. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

HATZIOS, K. K.; HOAGLAND, R. E. **Crop safeners for herbicides: development, uses, and mechanisms of action**. San Diego: Academic Press, 1989. 399 p.

HOFFMANN, O. L. Chemical seed treatments as herbicide antidotes. **Weeds**, Ithaca, v. 10, n. 1, p. 32-41, Dec. 1962.

KARAM, D. et al. Seletividade da cultura do milho ao herbicida clomazone por meio do uso de dietholate. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 1, p. 72-79, dez. 2003.

KOTOULA-SYKA, E.; HATZIOS, K. K. Interactions of tribenuron with four safeners and piperonyl butoxide on corn (*Zea mays*). **Weed Science**, Champaign, v. 44, n. 2, p.215-218, Apr./Jun. 1996.

LAMOUREUX, G. L.; FREAR, D. S. Pesticide metabolism in higher plants: in vitro enzyme studies. In: PAULSON, G. D., FREAR, D. S., MARKS, E. P. (Ed.) **Xenobiotic metabolism: in vitro methods**. Washington: American Chemical Society, 1979. p.72-128. (American Chemical Society Symposium Series, 97).

LEE, D. J.; KOBAYASHI, K.; ISHIZUKA, K. Effect of soil moisture condition on the activity of soil-applied herbicides. **Weed Research Japan**, Tokio, v. 43, n. 1, p. 162-163, Mar. 1998.

LEE, D. J. et al. Soil characteristics and water potential effects on plant-available clomazone in rice. **Weed Science**, Champaign, v. 52, n. 2, p. 310-318, Mar./Apr. 2004.

MARCHESAN, E. **Características de cultivares de arroz irrigado**. 1. ed. Santa Maria, 2006. 94 p. v.1.

MERVOSH, T. L. et al. Clomazone sorption in soil: Incubation time, temperature, and soil moisture effects. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 8, p. 2295-2300, Aug. 1995.

MOZER, T.J., TIEMEIER, D.C., JAWORSKI, E.G. Purifications and characterization of corn glutathione s-transferase. **Biochemistry**, Washington, v. 22, n. 5, p.1068-1072, Mar. 1983.

NORMAN, M.A.; LIEBL, R.A.; WIDHOLM, J.M. Site of clomazone action in tolerant-soybean and susceptible-cotton photomixotrophic cell suspension cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, n. 2, p. 704-709, Oct. 1990.

O'BARR, J. H. et al. Rice response to clomazone as influenced by application rate, soil type, and planting date. **Weed technology**, Lawrence, v. 21, n. 1, p. 199-205, Jan./Mar. 2007.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Seletividade de herbicidas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 291-313.

RANGEL, P. H. N.; GUIMARÃES, E. P.; NEVES, P. C. F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 349-357, maio 1996.

RIBOLDI, J. **Cadernos de matemática e estatística: análise de variância**. 2. ed. Porto Alegre: Instituto de Matemática - UFRGS, 1995, 105 p. (série B, nº 27)

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina: IAPAR, 2005, 592 p.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, J. E. E.; FUERST, E. P. Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationships. **Weed Technology**, Lawrence, v. 9, n. 2, p. 218-227, Apr./Jun. 1995.

SENSEMAN, S. A. **Herbicide handbook**. 9th ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2007, 458 p.

SHERDER, E. F.; TALBERT, R. E.; CLARK, S. D. Rice (*Oryza sativa*) cultivar tolerance to clomazone. **Weed technology**, Lawrence, v. 18, n. 1, p. 140-144, Jan./Mar. 2004.

STRECK, E. V.; et al., **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: EMATER/RS, 2008, 222 p.

TENBROOK, P. L.; TJEERDEMA, R. S. Biotransformation of clomazone in Rice (*Oryza sativa*) and early watergrass (*Echinochloa oryzoides*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 85, n. 1, p. 38-45, May 2006.

VARVINA, C. **Plant growth regulator as herbicide safeners for metribuzin induced injury to soybean (*Glycine max*)**. 1987. 147 f. Dissertação de doutorado (PhD em Agricultura) - University of Georgia. Geórgia.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997, 165 p.

WILLINGHAM, S. et al. Early postemergence clomazone tank mixes on coarse-textured soils in Rice. **Weed technology**, Lawrence, v. 22, n. 4, p. 565-570, Oct./Dec, 2008.

YAZBEK JÚNIOR, W.; FOLONI, L. L. Efeito do protetor de sementes na seletividade de herbicida na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Ecosystema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 29, n. 1, p. 33-38, jan./dez. 2004.

YUN, M. S. et al. Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and – susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Davis, v. 83, n. 2-3, p. 107-114, Oct./Nov. 2005.

ZHANG, W. et al. Differential tolerance of rice (*Oryza sativa*) varieties to clomazone. **Weed Technology**, Lawrence, v. 18, n. 1, p. 73-76, Jan./Mar. 2004.